

Evaluation of the accuracy of sub-ppb level acetone standard gas and highly sensitive acetone bio-sniffer by using gas chromatography-mass spectrometry

ガスクロマトグラフィ質量分析計を用いたサブ ppb レベルの標準アセトンガスおよび高感度バイオスニファの精度評価

Yuichiro HOSOMI ^{*} and Naohiro ISHIZUKI ^{*}

Graduate School of Medical and Dental Sciences, Institute of Science Tokyo, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8580, Japan

Kenta ICHIKAWA, ^{**} Kenta IITANI ^{**} and Kohji MITSUBAYASHI ^{**}

Laboratory for Biomaterials and Bioengineering, Institute of Integrated Research, Institute of Science Tokyo, 2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

TEL: +81-3-5280-8091 FAX: +81-3-5280-8094 e-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

(Received 20 January, 2025 Accepted 5 March, 2025)

Continuous measurement of volatile organic compounds is expected for non-invasive monitoring of metabolic functions and screening of diseases. Especially, acetone emitted through the skin is known for its correlation to lipid metabolism and promising for detection of diabetes mellitus. However, the concentration of transdermal acetone is estimated to be sub-ppb level, which requires highly sensitive and selective sensor. Additionally, accurate standard acetone gas at sub-ppb level is also essential for evaluation of these sensors. In our previous study, we developed a biofluorometric acetone gas sensor based on nicotinamide adenine dinucleotide (NADH, excitation 340 nm, emission 490 nm)-dependent secondary alcohol dehydrogenase. In this study, we evaluated the accuracy of concentration of acetone gas at the sub-ppb level, prepared by a flow rate-based continuous dilution method. Then, the reliability of the acetone bio-sniffer was also evaluated by correlation analysis between the signal obtained by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) and the acetone bio-sniffer at the same acetone gas. The outputs in both measurement methods showed linear correlation ($R^2 = 0.996$), indicating the reliability of the acetone bio-sniffer. In the future works, continuous measurement of transdermal acetone at various locations on the body surface will be conducted by using the acetone bio-sniffer.

Keywords: volatile organic compounds (VOCs), skin gas, acetone, bio-sniffer

I. INTRODUCTION

生体ガスに含まれる揮発性有機化合物 (VOCs) の濃度は、代謝状態や疾患の有無によって変化するため、VOCs

* 東京科学大学大学院 医歯学総合研究科

** 東京科学大学 総合研究院 生体材料工学研究所

SAS Award was given to this paper presented as Poster Presentation at the 2024 SAS Symposium.

濃度の計測による非侵襲な代謝機能評価及び疾病スクリーニングの実現が期待されている¹。現在、呼気を対象とした生体ガス計測に関する研究が数多く進められているが、呼気の採取は被験者への負担が大きく、感染症のリスクも高い。一方、皮膚ガスは呼気に比して採取に伴う被験者への負担が小さく、自然な状態で連続的な評価が可能であることから、新たな計測対象として注目されている。VOCs の 1 種であるアセトンは脂質代謝や糖尿病

に関連するが、経皮アセトンガスの濃度は sub-ppb レベルと推定され^{2,3}、計測には高感度なセンサが求められる。また、高精度に sub-ppb レベルのアセトンガスを調製し、センサ性能を評価することも必要である。本研究では、アセトン用生化学式ガスセンサ(バイオスニファ)を高輝度なレーザ励起白色光源(LPLS)を用いて構築した。また、流量比に基づく希釈にて調製した sub-ppb レベルのアセトンガスを、高い信頼性を有するガスクロマトグラフィ質量分析計(GC-MS)及びバイオスニファに負荷し、出力の相関を調べ、本センサの有用性を評価した。

II. METHODS AND MATERIALS

II-A. Construction of bio-sniffer for acetone

本センサは、Fig.1(a)に示すように2級アルコール脱水素酵素(S-ADH)を触媒とする還元反応に基づき構築した。本系にてアセトンが還元される際、補酵素ニコチンアミドアデニンヌクレオチド(NADH)が消費される。NADHは蛍光特性(ex.: 340 nm, fl.: 490 nm)を有するため、反応中に生じる蛍光強度の減少を検出することで、アセトン濃度の定量が可能となる。センサ系概略図をFig.1(b)に示す。本センサは光ファイバプローブの先端に気液隔膜フローセル及び酵素膜を固定することにより作製した。酵素膜は、親水性ポリテトラフルオロエチレン膜(H-PTFE膜、JGWP14225、Merck Millipore)を担持膜とし、15 w/v% (溶媒: エタノール) の、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)と2-エチルヘキシルメタクリレート(EHMA)の共重合体である poly [MPC-co-EHMA] (PMEH)を用いて、S-ADHを包括固定し作製した。プローブには2分岐光ファイバを介して、励起ユニットとしてLPLS及び励起光用バンドパスフィルタ(BPF、340 ± 5 nm)、検出ユニットとして蛍光用BPF (490 ± 5 nm)及び光電子増倍管(PMT)を取り付けた。

(a)



(b)

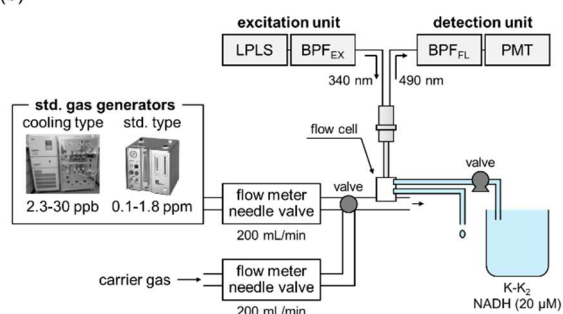
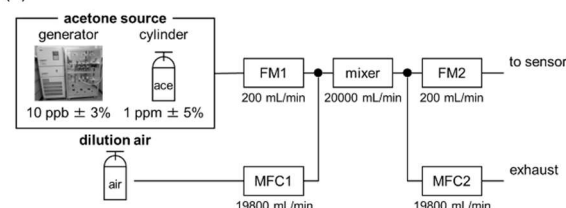


Fig. 1. (a) The detection principle of acetone using S-ADH. (b) An overview of acetone bio-sniffer.

II-B. Evaluation of sub-ppb level acetone gas generation system

流量比に基づく希釈装置をアセトンガス発生源に接続し、sub-ppb レベルのアセトンガス調製を行った (Fig.2 (a)). 調製したガスの評価ではまず、アセトンボンベ (1.0 ppm) または標準ガス発生装置 (10 ppb) による原料ガスと圧縮空気ボンベガス (Grade 1) を本装置にて流量比混合し、アセトンガスを調製した。次に調製したアセトンガスをテドラーバッグ (3.0 L) にて 2.5 L 捕集し、固相マイクロ抽出 (SPME) ファイバに 15 分吸着させた後、GC-MS で測定した。

(a)



(b)

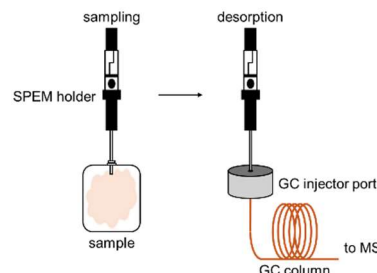


Fig. 2. (a) An overview of sub-ppb level acetone gas generation system based on flow rate-based continuous dilution method. (b) Measurement of acetone gas using the SPME method.

II-C. Measurement of acetone gas prepared by sub-ppb level acetone gas generation system

II-B と同様に調製したアセトンガス (0.5、10、20、50、200 ppb) を流量 200 mL/min でバイオスニファ感応部に負荷し、蛍光強度の減少を測定した。その際、気液隔膜フローセルの液相チャンネルには、20 μM の NADH を溶解させた K-K₂ 溶液を 1.5 mL/min で送液した。

III. RESULTS AND DISCUSSION

III-A. Accuracy of generated sub-ppb level acetone gas

1.0 ppm のアセトンボンベガスを希釈し調製したアセトンガスを GC-MS にて測定したところ、希釈率に応じたピーク面積 (m/z = 43 及び 58) が観察された。また標

準ガス発生装置にて生成した 10 ppb アセトンガスを希釈し調製した場合も同様であった。希釈後の濃度を 500 ppt としたアセトンガスにおけるピーク面積の変動係数は 2.0% であり、本系を用いて高精度な sub-ppb レベルのアセトンガス調製が可能であった。

III-B. Correlation between signals of GC-MS and bio-sniffer

調製したアセトンガスをバイオスニファ感応部に負荷したところ、ガス負荷に伴う蛍光強度の減少と、濃度に応じた定常値が得られた。また、同濃度のアセトンガス測定にて得られた GC-MS ピーク面積とバイオスニファ出力の相関を調べた。その結果、Fig. 3 に示すように両測定法は式(1)にて高い決定係数 ($R^2=0.996$) を以て、線形相関を示した。本結果は、開発したセンサの有用性を示すと考えられる。

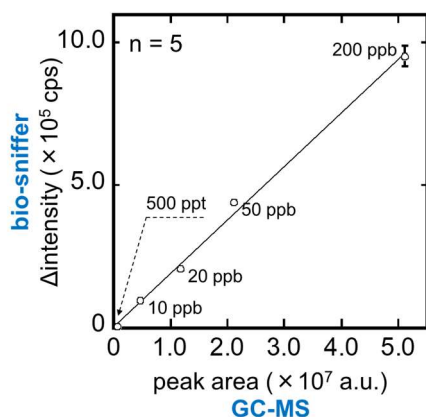


Fig. 3. Correlation plot of GC-MS and acetone bio-sniffer

$$\begin{aligned} \Delta \text{intensity} (\times 10^5 \text{ cps}) \\ = 0.0118 \times \text{peak area} (\times 10^7 \text{ a.u.}) + 3810 \end{aligned} \quad (1)$$

IV. CONCLUSION

本研究では、構築した希釈装置にて調製したアセトンガスを、GC-MS 及びバイオスニファに負荷し出力の相関を調べることで、開発したセンサの有用性を評価した。その結果、両出力に良好な線形相関が観察されたことから、本センサの有用性が示されたと考える。今後は本システムを経皮アセトンガスの計測に応用したい。

ACKNOWLEDGEMENTS

本研究の一部は JSPS 科研費 (JP21H04888, JP22K18416, JP23K26121)、JST ACT-X (JPMJAX23K2)、生体医歯工学共同研究拠点、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (JPNP19005) の支援を受けて行われた。

REFERENCES

- ¹ L. Pauling, A. B. Robinson, R. Teranishi, and P. Cary, "Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 68, no. 10, pp. 2374-6, Oct. 1971.
- ² M. Righettoni and A. Tricoli, "Toward portable breath acetone analysis for diabetes detection," *J. Breath Res.*, vol. 5, no. 3, 2011.
- ³ T. Tsuda, T. Ohkuwa, and H. Itoh, "Findings of Skin Gases and Their Possibilities in Healthcare Monitoring," *Gas Biology Research in Clinical Practice.*, pp. 125-132, 2011.